エンドファイト感染トールフェスクおよび ペレニアルライグラス種子の ヒラタコクヌストモドキの増殖に対する効果

吉松慎一・有村一弘¹⁾・島貫忠幸

草地試験場

Comparison of Population Growth Rates of Confused Flour Beetle, *Tribolium confusum* Jacquelin (Coleoptera: Tenebrionidae), on Endophyte-Infected or Endophyte-Uninfected Seeds of Ground Tall Fescue and Perennial Ryegrass. Shin-ichi Yoshimatsu, Kazuhiro Arimura²⁾ and Tadayuki Shimanuki (National Grassland Research Institute, Nishinasuno, Tochigi 329-2793, Japan). *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 42: 227-229 (1998)

Abstract: The population growth rates of *Tribolium confusum* reared on seeds of three cultivars of ground tall fescue (*Festuca arundinacea* Shreb.) infected and not infected with endophytes were compared. The numbers of adults reared on seeds of the three cultivars infected with endophytes were significantly lower than the numbers of adults reared on seeds without endophyte infection, after 10 weeks ($p < 0.0001$; structured ANOVA). The results suggest that endophyte-infected seeds adversely affected the population growth of *Tribolium confusum*. A similar experiment was carried out using seeds of two cultivars of endophyte-infected ground perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and seeds of three cultivars of non-infected ground perennial ryegrass. In this case, the inhibitory effect of endophyte-infected seeds was not detected.

Key words: Endophyte, plant resistance, *Tribolium confusum*, tall fescue, perennial ryegrass

エンドファイトとは植物体内部に共生する微生物の総称であるが、ここではイネ科植物体内で生活する糸状菌に限定したい。エンドファイトに感染した芝草や牧草は、非感染植物に比べ耐病虫性、耐乾性が強いことが知られており、有望な生物的防除手段として近年研究が盛んになってきた (Schardl and Phillips, 1997; 古賀, 1997)。

主要な牧草や芝草として世界的に広く利用されているイネ科のトールフェスク *Festuca arundinacea* Shreb., ペレニアルライグラス *Lolium perenne* L. にはそれぞれバク菌科のエンドファイトである *Neotyphodium coenophialum*, *Neotyphodium lolii* が感染する (ごく最近までこれらの属名としては *Acremonium* が適用されてきた; Glenn et al., 1996)。これらのエンドファイトは、種子や植物体内に菌糸の状態に寄生していて、植物の体外に出ることがなく、また病徴はまったく現さない。したがってこれら *Neotyphodium* 型のエンドファイトに植物が感染していても、非感染植物と見分けることはできない。また、エンドファイトは感

染植物の種子伝染により次世代に引き継がれる (古賀, 1993)。エンドファイトに感染したトールフェスク、ペレニアルライグラスはこれまで少なくとも 5 目 10 科 23 種の昆虫に対し耐虫性を示すことが主に海外から報告されてきた (Breen, 1994)。しかし、エンドファイトの耐虫性に関する日本からの研究は開始されたばかりである。

エンドファイトの作用機構は、昆虫、植物、エンドファイトの組み合わせでさまざまであることから (Clay, 1989)、わが国においてもエンドファイト感染植物がどのような種類の昆虫に効果があるかスクリーニングした。本研究では、ヒラタコクヌストモドキ *Tribolium confusum* Jacquelin の増殖率をエンドファイトに感染したトールフェスク種子 3 品種と非感染のトールフェスク種子 3 品種およびペレニアルライグラス感染種子 2 品種と非感染種子 3 品種でそれぞれ比較した。

本文に先立ち、供試虫を譲渡して下さり、また飼育方法のご指導をいただいた農林水産省食品総合研究所の中北 宏室長および池長裕史、宗田奈保子両氏にお礼申しあげる。那須ナーセリーの長谷川一夫氏には供試種子の一部を提供していただいた。農林水産省草地試験場の井村 治上席研究官には本稿を校閲いただき、同試験場の森本信生氏には調査を一部手伝っていただいた。また、貴重なコメントを賜った農林水産省農業環境技術研究所の月星隆雄博士および統計処理についてご教示いただいた同研究所の山村光司氏に併せて感謝したい。

材料および方法

1. 供試虫

供試したヒラタコクヌストモドキは食品総合研究所の貯蔵害虫研究室から分譲を受けた。これをもとに実験に十分な虫数を得るために、小麦胚芽を餌として数か月間 24°C 16 時間明期、8 時間暗期の条件下で増殖させた。

2. 供試種子

実験に先立って、エンドファイトに高率にあるいは低率に感染しているとされていたトールフェスク *Festuca arundinacea* Shreb. 10 品種およびペレニアルライグラス *Lolium perenne* L. 8 品種の種子をそれぞれ十分な量だけ確保した。次にこれらの種子の一部を Saha et al. (1988) の方法で染色し、各品種ごとにランダムに 48~67 粒を選びスライドグラスとカバーグラスに 1 粒ずつはさんで指で押しつぶし、光学顕微鏡を用いてエンドファイト感染の有無を種子 1 個ずつについて判定した。

これらの各品種ごとの種子の感染率を計算し、一般に低率の感染といわれる感染率 5% 以下の品種および一般に高率の感染といわれる感染率 70% 以上の品種を材料として選抜した。以後慣例に従って前者を非感染種子、後者を感染種子と呼ぶ。用いた種子は、トールフェスク非感染種子 3 品種 (ホクリョウ, サザンクロス, トマホーク)、トールフェスク感染種子 3 品種 (ケンタッキー

¹⁾ 現在 九州農業試験場

²⁾ Present address: Kyushu National Agricultural Experiment Station, Nishigoshi, Kikuchi-gun, Kumamoto 861-1192, Japan
日本応用動物昆虫学会誌 (応動昆) 第 42 巻 第 4 号: 227-229 (1998)
1998 年 1 月 9 日受領 (Received 9 January 1998)
1998 年 6 月 22 日登載決定 (Accepted 22 June 1998)

31, SR8200, コロナド); ベレニアルライグラス非感染種子3品種(ベンファイン, パトリオット, ノーマッド), ベレニアルライグラス感染種子2品種(マンハッタン IIE, ブライトスター)である。各品種ごとに調査した感染率は第1表, 第3表を参照。

また, 草地試験場作物病害研究室において, これら感染品種のエンドファイトを培養して形態的特徴を調べたところ, トールフェスク種子では *Neotyphodium coenophialum*, ベレニアルライグラス種子では *Neotyphodium lolii* と同定された。

3. 増殖率の比較

各品種の種子をそれぞれミルで粉碎した。通気のために蓋の一部に金網を張り, その上にダニ防止のためにろ紙をテープでとめた直径 80 mm, 高さ 45 mm のシール容器 1 個に砕いた種子 20 g とランダムに選択したヒラタコクスストモドキ成虫 10 個体を入れた。この容器を各品種 10 個ずつ準備し, 各容器には品種名をつけ, 24°C 16 時間明期, 8 時間暗期で飼育した。トールフェスク種子では 10 週後の各品種ごとの生存成虫数を容器ごとに数えた。ベレニアルライグラス種子では同様に 12 週後の各品種ごとの生存成虫数を容器ごとに数えた。また, 肉眼で蛹と動いている幼虫のおおよその量を記録した。

データの解析については, エンドファイト感染品種と非感染品種の 2 グループに分けて, 構造化分散分析をした。統計処理に先立ち, ヒラタコクスストモドキの個体数は対数変換した。

結 果

1. トールフェスク種子による飼育試験

第1表に各品種ごとのエンドファイト感染率および 10 週後の生存成虫数を示した。

10 週後の感染種子 3 品種での成虫数は非感染種子 3 品種の成虫数よりも少なかった ($p < 0.0001$; 第2表)。感染種子の中では最

も感染率の低かったケンタッキー 31 では, やや増殖は認められた。他の感染種子 2 品種ではほとんど増殖はみられなかったが, 両者とも新成虫はわずかに確認できた。すなわち, SR8200 では容器 10 個のうち 2 個体の新成虫が出現したものが 6 個, 1 個体の新成虫がみられたものが 1 個, 新成虫がまったくいなかったものが 3 個であり, また幼虫, 蛹はごく少数いたにすぎなかった。コロナドでは容器 10 個のうち 1 個体の新成虫が出現したものが 3 個で他の 7 個の容器では新成虫はまったく認められなかった。また, コロナドではどの容器とも幼虫も蛹もほとんどいなかった。

2. ベレニアルライグラス種子による飼育試験

第3表に各品種ごとのエンドファイト感染率および 12 週後の生存成虫数を示した。12 週後の非感染種子 3 品種での成虫数は感染 2 品種の成虫数と差がなかった (第4表)。

考 察

トールフェスク種子による飼育試験の結果からは, 感染トールフェスク種子ではヒラタコクスストモドキの増殖率は明らかに低く抑えられたと考えられた。他方, ベレニアルライグラスの場合は, ヒラタコクスストモドキの増殖率はエンドファイトの感染とは関連がないと考えられた。

エンドファイトに感染した植物では多くのアルカロイドが作られることが報告されており (Schardl and Phillips, 1997), これらが耐虫性と関連があることもわかっている。ところが, 植物種とエンドファイトの種類の違いによって作られるアルカロイドの種類も異なっていることも報告されている (Siegel et al., 1990)。今回扱った 2 種のエンドファイトは寄主特異性が強く, *N. coenophialum* はトールフェスクに感染し, *N. lolii* はベレニアルライグラスに感染することが報告されている (Schardl, 1996)。また, 耐虫性の機構は昆虫ごとに異なる。例えば, ゾウムシ科の *Listronotus bonariensis* (Kuschel) はアルカロイドの一種である

第1表 エンドファイト感染, 非感染の破碎したトールフェスク種子 6 品種で 10 週間飼育した場合のヒラタコクスストモドキの生存成虫個体数と各品種の感染率

品種名	個体数 ^a	エンドファイト感染率 ^b
ホクリョウ	330.5±23.5	0
サザンクロス	321.0±14.8	0
トマホーク	307.1±14.8	0
ケンタッキー 31	40.3± 6.2	74
SR8200	8.0± 0.7	86
コロナド	6.2± 0.8	100

^a 平均±標準誤差。

^b Saha et al. (1988) の方法で各品種 50 個の種子を調べた。

第3表 エンドファイト感染, 非感染の破碎したベレニアルライグラス種子 5 品種で 12 週間飼育した場合のヒラタコクスストモドキの生存成虫個体数と各品種の感染率

品種名	個体数 ^a	エンドファイト感染率 ^b
ベンファイン	181.8±11.6	0
パトリオット	154.8±14.1	2
ノーマッド	130.3±11.2	2
マンハッタン IIE	122.8± 6.7	76
ブライトスター	185.2±10.9	98

^a 平均±標準誤差。

^b Saha et al. (1988) の方法で各品種 50~53 個の種子を調べた。

第2表 第1表の結果の分散分析表 (対数変換後)

要因	平方和	自由度	平均平方	F	p
感染	162.34	1	162.34	1566.0	$p < 0.0001$
品種	181.90	4	45.475	438.68	$p < 0.0001$
誤差	5.5978	54			
全体	187.50	59			

第4表 第3表の結果の分散分析表 (対数変換後)

要因	平方和	自由度	平均平方	F	p
感染	0.0001	1	0.0001	0.0015	0.9693
品種	1.4383	3	0.4794	7.3373	0.0004
誤差	2.9404	45			
全体	4.3787	49			

ペラミンを含有する植物に対して摂食阻害を示し (Rowan and Gaynor, 1986), ムギクビレアブラムシ *Rhopalosiphum padi* (L.) とムギミドリアブラムシ *Schizaphis graminum* (Rondani) はロリンアルカロイドを多く含んだ植物体上では死亡率が高くなる (Siegel et al., 1990). トールフェスクには *N. coenophialum* が, ペレニアルライグラスには *N. lolii* が感染しており, 生産する物質が異なっているために今回報告したトールフェスクとペレニアルライグラスではエンドファイトの有無に対するヒラタコクヌストモドキの反応が異なると考えられた. 貯蔵害虫では他にコクヌストモドキ *Tribolium castaneum* (Herbst) でも *N. coenophialum* に感染したトールフェスク種子では非感染の種子に比較して本種の増殖率は有意に低かったが, *N. lolii* に感染したペレニアルライグラス種子と非感染の種子では増殖率に差がなかったことが報告されている (Cheplick and Clay, 1988). しかし, エンドファイトに感染したトールフェスク種子がこれら 2 種に示す耐虫性機構の解明は今後の課題である.

エンドファイト感染植物により有害な影響を受ける日本産の昆虫を今後さらに検索するとともに, エンドファイト感染植物がそのような昆虫に及ぼす耐虫性機構について調査, 研究を推進し, 生物的防除に役立てる必要がある.

引用文献

- Breen, J. P. (1994) *Annu. Rev. Entomol.* 39: 401-423.
Cheplick, G. P. and K. Clay (1988) *Oikos* 52: 309-318.
Clay, K. (1989) *Mycol. Res.* 92: 1-12.
Glenn, A. E., C. W. Bacon, R. Price and R. T. Hanlin (1996) *Mycologia* 88: 369-383.
古賀博則 (1993) グリーンニュース 31: 3-7.
古賀博則 (1997) バイオコントロール研究会レポート 5: 75-84.
Rowan, D. D. and D. L. Gaynor (1986) *J. Chem. Ecol.* 12: 647-658.
Saha, D. C., M. A. Jackson and J. M. Johnson-Cicalese (1988) *Phytopathology* 78: 237-239.
Schardl, C. L. (1996) *Annu. Rev. Phytopathol.* 34: 109-130.
Schardl, C. L. and T. D. Phillips (1997) *Plant Disease* 81: 430-438.
Siegel, M. R., G. C. M. Latch, L. P. Bush, F. F. Fannin, D. D. Rowan, B. A. Tapper, C. W. Bacon and M. C. Johnson (1990) *J. Chem. Ecol.* 16: 3301-3315.